

CPPU对津春4号黄瓜子叶和下胚轴组织培养的影响

李永辉, 白远国, 邓红云
(荆州职业技术学院, 湖北 荆州 434100)

摘要: 文章研究了不同浓度的 CPPU[N-(2-氯-4-吡啶基)-N-苯基脲]对津春4号黄瓜子叶和下胚轴培养的影响, 初步建立了 CPPU 对津春4号黄瓜子叶和下胚轴愈伤组织诱导和不定芽分化的适宜水平。以津春4号黄瓜子叶和下胚轴为外植体, 在附加有不同浓度生长调节剂(PGR)的 MS 培养基上进行培养, 结果表明, 下胚轴比子叶效果好, 其最佳愈伤组织诱导与生长培养基为 MS+NAA0.4~0.5mg/L+CPPU0.05~0.20mg/L; 最佳芽诱导培养基为 MS+CPPU0.1 mg/L。

关键词: 黄瓜; CPPU; 组织培养; 愈伤组织; 芽诱导

中图分类号: S642.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-0907(2007)04-0046-03

试验主要从不同浓度的 CPPU 诱导津春4号黄瓜愈伤组织和不定芽影响因素方面进行探讨, 初步建立 CPPU 诱导津春4号黄瓜愈伤组织和不定芽的适宜水平。

1 材料和方法

1.1 材料

黄瓜(*Cucumis sativus* L.)品种津春4号的种子, 先在70%酒精中浸泡2min, 再用0.1%升汞消毒2min, 无菌水冲洗3次, 接种到含0.55%琼脂和3%蔗糖的MS培养基上, 取发芽5~7d的无菌苗子叶和下胚轴作转化材料。

1.2 培养条件

诱导培养基: 以MS为基本培养基, CPPU浓度分别为0.005mg/L、0.02mg/L、0.05mg/L、0.1mg/L、0.2mg/L、0.4mg/L、0.8mg/L并设以下4组: 第I组MS+CPPU+NAA0.1 mg/L; 第II组MS+CPPU+NAA0.4mg/L; 第III组MS+CPPU+NAA0.5 mg/L; 第IV组MS+CPPU+NAA1.0mg/L。光照条件14h/d, 光照强度2000lx, pH值5.8~6.0, 蔗糖3%, 琼脂0.55%, 温度(24±2)℃。

1.3 试验方法

1.3.1 种子灭菌 先在70%酒精中浸泡2min, 再用0.1%升汞消毒6min, 无菌水冲洗3次。

1.3.2 外植体及接种方式 取津春4号黄瓜无菌苗, 在超净工作台上将子叶中部切成0.5cm×0.5cm小块, 下胚轴切成1.0cm左右小段, 将子叶和下胚轴形态学上端向上接种于培养基上, 每个

培养瓶分别接种5片子叶和5段下胚轴, 每个处理接种5瓶。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织培养

外植体接种后, 子叶和下胚轴5d后在其各自表面及切口处长出浅绿色愈伤组织, 继续培养28d后, 将上述试验处理进行随机抽样, 所得样品进行编号(表1), 由表1可以看出, 相同培养基上不同外植体的愈伤组织诱导率差异很大。下胚轴诱导率可达86%, 子叶的诱导率只为54%, 其结果证明下胚轴是产生愈伤组织的较好外植体。

2.1.1 愈伤组织的诱导 从表1可以看出, 在只有低浓度的CPPU而无生长素时能诱导愈伤组织形成, 如1、2、3号培养基, 同时, CPPU、生长素浓度均较高时也能诱导愈伤组织形成, 如14、15号培养基, 诱导率可达9%~17%; 愈伤组织诱导率较好的有7、8、9、10、11号培养基, 诱导率达64%~86%。当CPPU质量浓度达到0.2 mg/L, NAA达到0.4 mg/L时, 外植体诱导愈伤组织最好, 但没有芽的形成(如9号培养基); 较低浓度的CPPU与NAA(0.4 mg/L)配比, 诱导丛芽产生, 丛芽长势较弱(如7、8号培养基)。与CPPU相比, 6-BA在供试的浓度条件下诱导愈伤组织的浓度为1.0 mg/L、2.0 mg/L。

28d后将愈伤组织转入与其初代相同的新鲜培养基中进行继代培养, 试验结果表明, 4、5、12、13号培养基愈伤组织生长缓慢, 质地致密, 7、8、

表1 PGR对子叶和下胚轴诱导愈伤组织的影响

培养基编号	调节因子(mg/L)			外植体个数(个)		愈伤组织诱导率(%)		芽诱导率(%)		芽生长状况	
	NAA	CPPU	6-BA	子叶	下胚轴	子叶	下胚轴	子叶	下胚轴	丛芽	长势
1	0	0.005	-	25	25	4	9	-	-	-	-
2	0	0.020	-	25	25	8	13	-	-	-	-
3	0	0.050	-	25	25	10	17	-	-	-	-
4	0.1	0.020	-	25	25	13	20	13	29	-	-
5	0.1	0.050	-	-25	25	21	47	40	57	-	-
6	0.1	0.100	-	25	25	31	53	53	61	-	-
7	0.4	0.050	-	25	25	37	77	67	72	丛	弱
8	0.4	0.100	-	25	25	42	79	69	84	丛	弱
9	0.4	0.200	-	25	25	54	86	79	94	-	-
10	0.5	0.100	-	25	25	54	74	70	81	-	-
11	0.5	0.200	-	25	25	42	64	26	30	-	-
12	0.5	0.400	-	25	25	48	51	14	27	-	-
13	1.0	0.200	-	25	25	47	36	-	-	-	-
14	1.0	0.400	-	25	25	20	17	-	-	-	-
15	1.0	0.800	-	25	25	10	16	-	-	-	-
16	0.4	-	1.0	25	25	41	65	12	41	-	-
17	0.4	-	2.0	25	25	7	10	16	36	-	-
18	0.5	-	1.0	25	25	38	64	21	51	-	-
19	0.5	-	2.0	25	25	17	32	13	46	-	-
20	-	0.050	-	25	25	-	-	-	-	丛	弱
21	-	0.100	-	25	25	-	-	-	-	丛	壮
22	-	0.200	-	25	25	-	-	-	-	丛	壮

9、10号培养基是较好的愈伤组织培养基,上述培养基的愈伤组织长时间不继代,愈伤组织分化现象不明显,颜色开始褪去,最终失去分化能力,所以应保持28d继代1次。

2.1.2 愈伤组织的继代培养 继代过程,1~2代愈伤组织生长缓慢,3~4代生长速度明显加快,继代至5代,愈伤组织的生长速度开始下降,其中很大一部分表面变黄枯死(图1)。

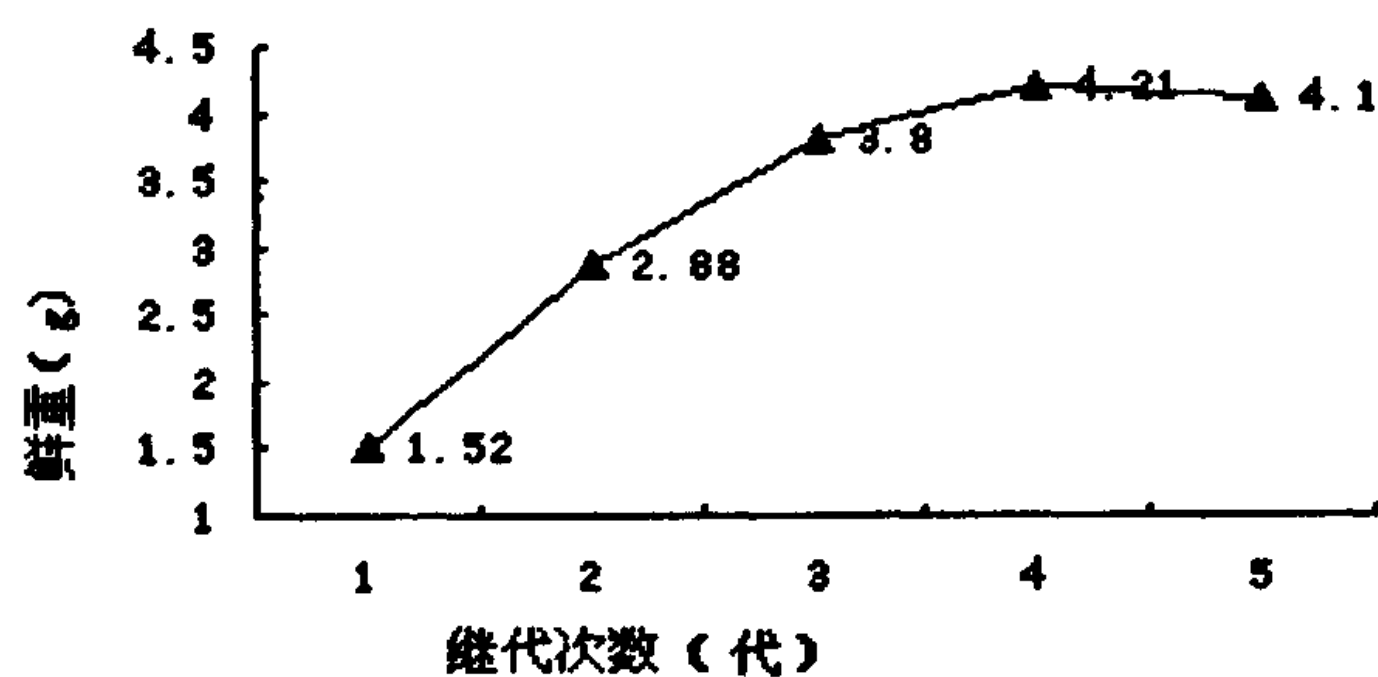


图1 愈伤组织的继代过程

以第三代愈伤组织为试验材料,每瓶(约25ml培养基)接种量鲜重约0.2g,培养过程中每3d取样,称其鲜重,绘制成生长曲线(图2)。

从图2可以看出,津春4号黄瓜愈伤组织的生长符合“S”型曲线,生长周期约为27d,生长延缓期为5d左右,10~18d为指数生长期,18d~25d为对数生长期,此时愈伤组织增长率可达103mg/g·d,第27d开始进入稳定期。因此继代时间选择

28d较为适宜。

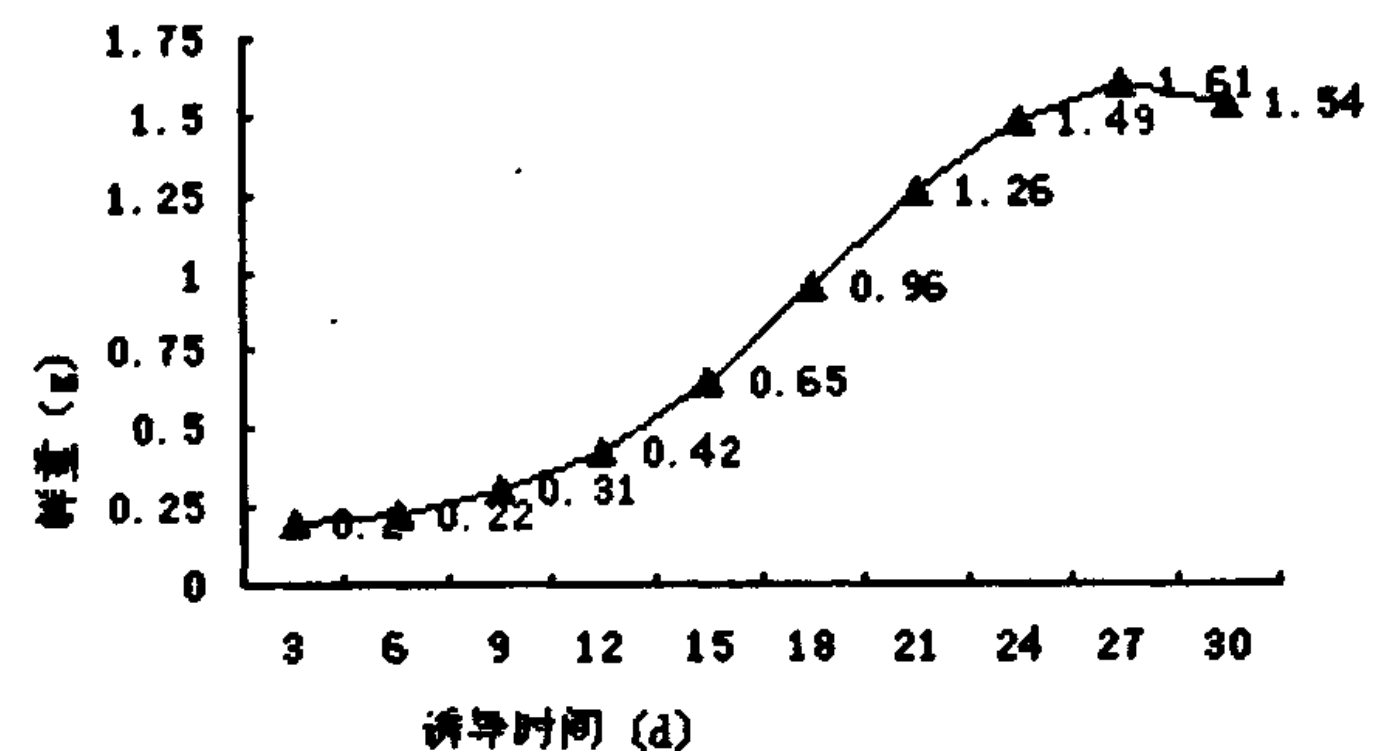


图2 愈伤组织的生长曲线

2.2 芽的诱导和增殖

2.2.1 不定芽的诱导 将外植体切块接种于表1所列培养基中,2~3d子叶迅速增大,第四天子叶块开始发生变化,呈凹凸不平的肿胀状,并在切面外有少量黄白色愈伤组织;下胚轴3~5d在两端切口处有大量的白色愈伤组织,呈哑铃状,10d后转入13、14、15号培养基中,少数子叶块在切口处产生小突起,继而发育成芽,并逐渐形成簇状多芽。通过观察多因素设计试验,不同激素浓度变化及配比对不定芽诱导产生不同的影响,从表1可以看出,MS培养基附加0.2mg/L的NAA和0.05~0.20mg/L的CPPU或0.5~2.0mg/L的6-BA均能诱导芽产生。当CPPU质量浓度在0.05~0.20mg/L,NAA质量浓度在0.4~0.5mg/L且细胞

分裂素浓度低于生长素浓度时,均有较高的诱导率,可达64%~86%,如7、8、9、10、11号培养基,尤其是9号培养基可达86%,当CPPU超过0.1 mg/L或NAA超过0.5 mg/L时,芽的诱导受到抑制,当CPPU浓度达到2.0mg/L或NAA超过0.5 mg/L时,外植体仅有愈伤组织产生,但没有芽的形成,较低浓度的CPPU与较低浓度的NAA配比,

诱导丛芽。

2.2.2 不定芽的增殖 从表2中可以看出,6-BA在0.5~2.0mg/L,同时NAA为0.2 mg/L时,幼苗的侧芽萌发。重复上述操作(对丛芽切割后再进行转接),可保持3~4倍的增殖率,但试验结果表明(表2),此种方法培育的苗生长较弱,需经过壮苗培养后方可进行移栽。

表2 试管苗和芽生长的观察

培养基编号	调节因子(mg/L)			芽平均个数(个)		苗生长状况	
	NAA	CPPU	6-BA	子叶	幼苗	子叶	幼苗
A	0.2	0.05	-	3.0	3.0	弱	弱
B	0.2	0.10	-	4.0	2.5	弱	壮
C	0.2	0.20	-	3.5	4.0	壮	壮
D	0.2	-	0.5	3.5	3.0	弱	弱
E	0.2	-	1.0	4.0	3.5	弱	壮
F	0.2	-	2.0	2.0	2.5	弱	弱

当CPPU质量浓度在0.05~0.20mg/L,NAA质量浓度为0.2 mg/L时,从侧芽处产生丛芽,芽生长速度快,芽的增殖较好,平均每个茎段可产生芽3.0~4.0个。当CPPU质量浓度大于0.2 mg/L时芽的增殖受到抑制,因而MS+CPPU0.2mg/L+NAA0.2mg/L是较好的芽增殖培养基。其结果表明,簇状芽在诱导培养基上不易伸长,将其切割后转移到CPPU浓度较低的培养基中,芽生长状况良好。

3 结论

CPPU是一种具有细胞分裂素活性的苯基脲类衍生物,其细胞分裂素活性是BA-P的10倍,4-PU的100倍,被认为是玉米素的廉价替代物。CPPU作为一种细胞分裂素类的植物生长调节剂,其主要作用为促进细胞分裂和器官发生,其诱导细胞分裂和促进器官发生的活性远远高于一般嘌呤型细胞分裂素,CPPU正广泛的应用于实践。

本试验主要从CPPU诱导津春4号黄瓜产生愈伤组织和不定芽入手,初步建立了CPPU对于津春4号黄瓜组织培养的最佳愈伤组织诱导与生长培养基为MS+NAA0.4~0.5 mg/L+CPPU0.05~

0.20 mg/L;最佳芽诱导培养基为MS+CPPU0.1mg/L。结果表明,CPPU分裂活性是6-BA的8~10倍。另外CPPU因其高效活性是否会增大组培植株的变异频率,对保持品种优良性方面是否有影响,有待进一步证实。由于试验周期长,CPPU诱导津春4号黄瓜生根和植株再生方面还需进一步试验。

参考文献:

- [1] 石春梅,高怀来,吴莲叶,等.无核白葡萄的组织培养与快繁技术[J].内蒙古农业科技,2005,(3):26-27.
- [2] 程麦风.大花蕙兰的组织培养和快速繁殖技术研究[J].内蒙古农业科技,2005,(7):190-191.
- [3] 赵志强,李瑞英,吴俊华,等.美女樱的组织培养技术研究[J].内蒙古农业科技,2006,(3):25-26.
- [4] 张玉喜,穆春华,于元杰.应用种子进行大葱组织培养的研究[J].华北农学报,2003,18(专辑):105-109.
- [5] 张建华.生长物质对唐菖蒲继代苗芽数增殖的影响[J].内蒙古农业科技,2006,(4):56.
- [6] 蒙蕊学,苏林富,田振荣,等.液体培养基中加入不同支撑物的试验[J].内蒙古农业科技,2007,(1):41.

(责任编辑 侯旭光)

(上接45页)

- [5] 江锡瑜,肖吉中,黄立栋,等.试论烟碱在株内的分布与栽培因素的关系[J].中国烟草,1988,(1):37-40.
- [6] 李进平,王昌军,戴先凯,等.白肋烟烟碱的田间积累与施肥、覆膜及采收方式的关系研究[J].中国烟草科学,2001,(3):30-33.
- [7] 吴云霞,杨林英,郑克宽.烤烟主要化学成分含量及产量与种植密度、氮肥种类的关系[J].内蒙古农业科技,

1996,(2):9-11.

- [8] 吴云霞,姚一萍,朗松岩.烤烟不同生育期茎叶中氮磷钾含量的变化[J].内蒙古农业科技,1995,(5):10-11.
- [9] 劳文慧.烤烟双棚育苗大田覆膜效应的研究[J].内蒙古农业科技,2005,(5):26-28.
- [10] 郑志广,杨栓明,蔡玉发.植物营养素对烤烟生长发育的影响[J].华北农学报,2006,21(专辑):37-40.

(责任编辑 吴云霞)